Meilensteine der embryologischen Forschung für das Verständnis von Entwicklungsgeschehen

M. G. WALZL

Abstract

Milestones in Embryological Research: Understanding Developmental Processes.

Man has always been interested in the development of animated beings and the emergence of the diversity of species. How are developmental processes regulated, and what predetermined order is there? This question has occupied developmental biologists from Aristotle to the winner of the Nobel Prize for Developmental Biology of 1995. More and more refined technical means, the discovery of cells as the fundamental structures of life, experiments and an understanding that heredity happens on a molecular basis have led to our deeper insight into life processes.

Einleitung

Die ontogenetische und phylogenetische Entwicklung von Lebewesen ist ein auffallendes Geschehen, das seit jeher die Aufmerksamkeit der Menschen auf sich gezogen und auch schon zu Zeiten der vorwissenschaftlichen Biologie und der Ära der frühen mikroskopischen Biologie zu bemerkenswerten philosophischen Überlegungen und Theorien über die Prinzipien des Lebens geführt hat. So wurde im 17. und 18. Jahrhundert ein heftiger wissenschaftlicher Streit darüber geführt, ob sich aus einer homogenen Materie (primordium, Ei) allmählich die späteren Organe herausdifferenzieren oder ob alle Körperteile bereits winzig klein vorgebildet (präformiert) sind und erst durch ihr Wachstum sichtbar werden.

Religiöse Vorstellungen, autoritär vertreten durch die Kirche der damaligen Zeit, sowie das Fehlen guter optischer Hilfsmittel verhinderten jedoch eine klare Sicht der Zusammenhänge und die richtige Interpretation der zur damaligen Zeit bekannten biologischen Fakten. Erst die Trennung von Kirche und Staat in der Epoche der Reformation und die fortschreitende Verbesserung des Mikroskopes gaben der Wissenschaft die Möglichkeit, sich – ab der Epoche der Aufklärung – von den alten Ideologien zu befreien und zu neuen, noch heute gültigen, Erkenntnissen zu gelangen.

Zu den grundlegenden Fragen der Biologie zählen auch heute noch die Fragen über Veränderungen während der Lebensspanne eines Lebewesens (Ontogenie) und die Entstehung

Stapfia 56,
zugleich Kataloge des OÖ. Landesmuseums, Neue Folge Nr. 131 (1998), 131-146

der Vielfalt der Arten von Lebewesen (Phylogenie). Die bisher gefundenen Antworten auf diese Fragen sind von basaler Bedeutung für den Wissenschaftszweig der Biologie, denn sie sind die Schlüssel für die Aufklärung des Wunders „Leben".

Ebenso reizvoll wie sich mit der Aufklärung dieser Wunder auseinanderzusetzen, ist es jedoch auch aus historischer Sicht die Wege und Irrwege bis zu den richtigen Antworten zu verfolgen. Dabei werden viele Vernetzungen und gegenseitige Beeinflussungen offenbar und die häufigen Umwege zu den richtigen Antworten erst verständlich. Die Entwicklung der Lebewesen, von der befruchteten Eizelle bis zum vielzelligen, oft hochdifferenzierten Tier, das selbst wieder Geschlechtszellen hervorbringen kann, ist das Thema der Embryologie. Heute decken embryologische Fragestellungen jedoch nur ein Teilgebiet der viel umfassenderen Wissenschaftsdisziplin Entwicklungsbiologie ab, die sich unter anderem mit so grundlegenden Problemen wie Altern, Krankheit und Sterben auseinandersetzt und daher das besondere Interesse der modernen Forschung gefunden hat, weil man, bezogen auf den Menschen, hofft, damit den „ewigen Jungbrunnen" zu finden. Durch moderne, erst in den letzten Jahren entwickelte Techniken der Genetik und Molekularbiologie wird den Menschen in dieser Hinsicht durch die Entwicklungsbiologie einige Hoffnung gemacht, die jedoch ob der sich abzeichnenden zukünftigen unbegrenzten Möglichkeiten an Manipulationen bereits in Unbehagen oder sogar Angst umschlägt.

Da eine komplette historische Abhandlung der vielschichtigen wissenschaftlichen Ansätze in der embryologischen Forschung den Rahmen dieses Beitrags um ein Vielfaches sprengen würde, sollen hier nur einige wenige, jedoch einschneidende Quantensprünge des Verständnisses von Entwicklungsgeschehen besprochen werden. Im Bewußtsein, daß eine geraffte allzu plakative Darstellung die historischen Begebenheiten verfälschen oder eine falsche Vorstellung von den meist in unzähligen kleinen Einzelschritten erarbeiteten Ideen und wissenschaftlichen Ergebnissen hervorrufen kann, sei der besonders interessierte Leser auf einige zusammenfassende und umfangreichere wissenschaftshistorische Werke (KRUMBIEGEL 1957, FREUND et al. 1963, OPPENHEIMER 1967, MÜLLER 1975, CREMER 1985, HORDER et al. 1985, JAHN et al. 1985, MOORE 1987, NAGL 1987, JAHN 1990, NÜSSLEIN-VOLHARD 1990, SANDER 1990) und Lehrbücher der Entwicklungsgeschichte (MÜLLER 1995, GILBERT 1997, GILBERT & RAUNIO 1997, WOLPERT et al. 1998) verwiesen.

Die Ursprünge der Embryologie und die Epigenese- und Präformationproblematik

Die Wissenschaft der embryologischen Forschung begann im 4. Jahrhundert vor Christus, also vor mehr als 2000 Jahren, bei den Griechen, als der Philosoph und Naturforscher ARISTOTELES (384-322 v.Chr.) eine Frage formulierte, die bis zum Ende des 19. Jahrhunderts in Europa die Denkweise über Entwicklung beherrschte.

ARISTOTELES zog aufgrund von Beobachtungen bei Hühnereiern und daraus abgeleiteten Überlegungen zwei Möglichkeiten in Betracht, wie die verschiedenen Teile des Embryos gebildet werden können. Eine Möglichkeit ist, daß im Embryo alle Teile von Beginn an vorgebildet sind und während der Entwicklung einfach nur größer werden, die andere, daß fortlaufend neue Strukturen entstehen, ein Prozess, den er Epigenese (= Umbildung) bezeichnete, was er mit einer Metapher „wie das Knüpfen eines Netzes" beschrieb. ARISTOTELES favorisierte die Epigenesehypothese, die besagt, daß Embryonen nicht winzig klein, komplett vorgefertigt, im Ei enthalten sind, sondern daß sich deren Form und Struktur im heranreifenden Embryo stufenweise entwickelt. Diese Vermutung war, wie wir heute wissen, richtig.

Die der Epigenese gegenteilige Ansicht, nämlich, daß der Embryo von Anbeginn an vorgefertigt ist, wurde im späten 17. Jahrhundert erneut verfochten. Die meisten Forscher konnten nicht glauben, daß physikalische oder chemische Kräfte ein Wesen, wie es ein Embryo ist, formen könnten. Gemäß dem in jener Zeit vorherrschenden Glauben über die göttliche Erschaffung der Welt und aller

lebenden Dinge, glaubten sie, daß alle Embryonen von Anbeginn an existiert haben und daß der erste Embryo einer Art alle zukünftigen Embryonen in sich haben müßte.

Sogar der brilliante italienische Embryologe des 17. Jahrhunderts, Marcello MALPIGHI (1628-1694), konnte sich von dieser Präformationsidee nicht befreien. Obwohl er eine bemerkenswert genaue Beschreibung der Entwicklung des Hühnerembryos gab, blieb er, entgegen den Tatsachen seiner eigenen Beobachtungen, überzeugt, daß der Embryo vom Anbeginn an voll entwickelt vorhanden ist. Er argumentierte, daß in sehr frühen Stadien die Teile so klein sind, daß sie sogar mit seinem besten Mikroskop nicht aufgelöst werden können. Andere Präformisten glaubten wiederum, daß das Spermium den Embryo enthält und einige waren sogar davon überzeugt, einen kleinen Menschen – einen homunculus – im Kopf des Spermiums zu sehen.

William HARVEY (1578-1657), ein englischer Arzt, der auch intensive Forschungen an Hühnereiern durchführte, vertrat dagegen in seiner 1651 veröffentlichten Arbeit „Exercitationes de generatione animalium" (Übungen über die Erzeugung der Tiere) epigenetische Vorstellungen, nämlich, daß sich sämtliche Tiere, auch solche, die lebende Junge gebären, der Mensch inbegriffen, aus Eiern entwickeln, und daß die Bildung des Embryos aus der ungeformten Grundsubstanz des Eies durch ein allgegenwärtiges formendes Prinzip „ob Gott, Natur oder Seele genannt" geschieht und daß ein „göttlicher Architekt" am Werk ist.

Die Präformationsfrage und die vitalistischen Erklärungsweisen der Epigenese waren während des 18. Jahrhunderts Gegenstand eines heftigen wissenschaftlichen Streites, und das Problem konnte solange nicht gelöst werden, bis einer der großen Fortschritte der Biologie stattgefunden hatte – die Erkenntnis, daß Lebewesen und damit auch Embryonen aus Zellen bestehen.

Jede Wissenschaft braucht ihre Werkzeuge

Es ist nicht verwunderlich, daß der sehr emotionell geführte, in erster Linie philosophische, Streit um epigenetische oder präformierte Entwicklung der Organismen zu keinem endgültigen Ergebnis führte, da die zur Klärung der Streitfrage benötigten Werkzeuge nicht vorhanden waren oder die vorhandenen von den anerkannten Wissenschaftlern der damaligen Zeit aus Voreingenommenheit nicht voll genutzt wurden. Instrumente, die der Vergrößerung von Gegenständen dienten, waren zwar schon lange bekannt, doch wurden sie in der biologischen Forschung – unter anderem auch aufgrund ihrer geringen Qualität – nur zögernd eingesetzt.

Über den Erfinder des Mikroskopes sind sich die wissenschaftshistorischen Autoren im unklaren, und bereits 1689 schreibt Pater Filippo BUONANNI, daß es nicht mehr so einfach zu sagen ist, wer der erste Erfinder des Mikroskopes war. Fest steht, daß Johannes FABER von Bamberg 1624 das Wort „Mikroskop" in Analogie zum Begriff „Teleskop" erstmals verwendete. Zu den Urhebern der Mikroskopie werden unter anderem der bereits erwähnte italienische Mediziner und Naturwissenschafter Marcello MALPIGHI, der niederländische Tuchhändler und Autodidakt Antoni van LEEUWENHOEK (1632-1723) und der englische Physiker und Naturforscher Robert HOOKE (1635-1703) gezählt, sowie der deutsche Kapuzinermönch und erste Mikrotechniker Johann Franz GRIENDEL von Ach (1631-1687), der den Ausspruch „Mit dem Mikroskop kann man aus einer Mücke einen Elephanten machen" tätigte.

Die Mikroskope des 17. und 18. Jahrhunderts bestachen eher durch ihre Eleganz, als durch ihre optische Qualität und wurden bevorzugt in Salons zur Ergötzung eingesetzt, denn als wissenschaftliche Instrumente genutzt. Erst im 19. Jahrhundert zeichnete sich eine Wende ab. Es wurden viele mechanische und optische Verbesserungen an den Mikroskopen durchgeführt. Die Mikroskopie verließ den Bereich der Liebhaberei und wurde zu einem Instrument der Wissenschaft, wie die zahlreichen Werke, die über das Mikroskop und mikroskopische Techniken herausgegeben wurden, bezeugen.

Die Zentren, in denen die großen Fortschritte in Bezug auf den Mikroskopbau getätigt wurden, waren in Europa Paris, Lon-

don, Berlin und auch Wien, wo der Mikroskopbauer Simon PLÖSSL (1794-1868) Geräte bester Güte herstellte.

Der Leiter des Optischen Institutes in Benediktbeuren, Joseph von FRAUNHOFER (1787-1826), entwickelte die ersten wirklich achromatischen, für das Mikroskop verwendbaren Linsen und sorgte so für die erste große technische Neuerung dieses Instrumentes. Die zweite technische Neuerung war das Ergebnis einer Zusammenarbeit des Mechanikers und Mikroskopbauers Carl ZEISS (1816-1888) mit dem Physiker und Mathematiker Ernst ABBE (1840-1905), die zum Bau von Mikroskopen bester Güte mit genau berechneten Linsensystemen führte. Die nun erzeugten Qualitätsmikroskope und die von August KÖHLER (1866-1948) eingeführte mikroskopische Beleuchtungseinrichtung führten zu einer ersten großen Blüte der mikroskopischen Untersuchungen, zur Entwicklung ausgeklügelter Präpariermethoden sowie histologischer Techniken und damit zu fundamentalen neuen Erkenntnissen in Bezug auf das Entwicklungsgeschehen bei Tieren und Pflanzen.

Die Anwendung des Hellfeld-Mikroskops in der klassischen Periode der mikroskopischen Forschung beschränkte sich jedoch im wesentlichen auf die Beurteilung des statischen Zustandes von fixiertem und gefärbtem Untersuchungsmaterial aus abgetöteten Objekten. Erst die Entwicklung von Phasenkontrast-, Interferenzkontrast- und Fluoreszenzmikroskopischen Verfahren, zusammen mit der Entwicklung von Mikromanipulatoren und dem umgekehrten Mikroskop, ermöglichten in diesem Jahrhundert einen immer tieferen Einblick in das dynamische Geschehen lebender Systeme. Dabei kommt der von Max HAITINGER (1868-1946) entwickelten Technik der Fluoreszenzmikroskopie aufgrund der hohen Nachweisempfindlichkeit von in Spuren vorliegenden fluoreszierenden Substanzen eine besondere Bedeutung zu, da mit den in den letzten Jahren entwickelten Verfahren der mikroskopisch feststellbaren Koppelung von bestimmten Fluorochromen mit Stoffen, die innerhalb des tierischen und menschlichen Körpers als Antigene wirken, Möglichkeiten geschaffen wurden, den Einbau organischer Substanzen in die Zellen mittels eines sichtbaren Markierungsmittels zu erfassen. Heute zählen Fluoreszenzmikroskopie, Immunhistochemie, und Videomikroskopie zu den wichtigsten Untersuchungstechniken in der Entwicklungsbiologie. Seit etwa 20 Jahren ist es auch möglich, mittels Interferenzkontrastmikroskopie und konfokaler Laserscanning-Mikroskopie, bei der monochromatisches Licht verwendet wird, Bewegungsabläufe und die dreidimensionale Organisation von Embryonen – ohne sie schneiden zu müssen – zu untersuchen.

Die Rolle der Spermien im Entwicklungsgeschehen

Ein sehr anschauliches Beispiel für den Zusammenhang zwischen Verbesserung der Mikroskope und Erkenntnisgewinn zeigt die Erforschung der Rolle von Spermienzellen beim Entwicklungsgeschehen. Denn erst seit dem letzten Jahrhundert ist die Rolle, die das Spermium bei der Befruchtung spielt, bekannt. Anton van LEEUWENHOEK, der 1678 das erste Mal Spermien entdeckte, hielt sie anfangs für Parasiten, die in der Samenflüssigkeit leben und gab ihnen daher den Namen Spermatozoa (Spermientiere). Zuerst nahm er an, daß sie nichts mit der Vermehrung der Organismen zu tun haben, in denen sie gefunden wurden, doch später glaubte er, daß jedes Spermium ein präformiertes Tier enthalte. 1685 schrieb LEEUWENHOEK, daß das Sperma der Keim ist und daß das Weibchen nur den Nährboden liefert, in den das Spermium gepflanzt wird. In dieser Hinsicht kehrte er zu einer Anschauung über Fortpflanzung zurück, die schon 2000 Jahre vorher von ARISTOTELES verbreitet wurde. Trotz größter Anstrengung bei der Suche nach dem präformierten Keim war LEEUWENHOEK enttäuscht, daß er ihn in den Spermatozoen nicht finden konnte. Nicolas HARTSOEKER, der andere Mitentdecker der Spermien, zeichnet dafür, was er im menschlichen Spermium zu entdecken hoffte: einen vorgefertigten Menschen („homunculus"). Der Glaube, daß die Spermien den gesamten ausgebildeten Organismus enthalten, wurde jedoch niemals voll akzeptiert, da dies ja ein enormes Vergeuden von potentiellem Leben beinhaltet hätte. Daher waren die meisten Forscher der Ansicht, daß Spermien

für das Entwicklungsgeschehen unwichtig seien. Gegen Ende des 18. Jahrhunderts hat Lazzaro SPALANZANI (1729-1799) in einer Serie von Experimenten gezeigt, daß gefilterte Samenflüssigkeit von Kröten, die keine Spermien enthielt, die Eier nicht befruchtete. Er schloß daraus jedoch, daß die visköse Flüssigkeit, die vom Filterpapier zurückgehalten wurde, und nicht die Spermien das Agens für die Befruchtung waren. Auch er war der Ansicht, daß die Spermientiere eindeutig Parasiten sind. Trotz dieses Irrtums gaben die Versuche jedoch die ersten Hinweise auf ihre Bedeutung.

Erst bessere Linsen der Mikroskope und die Zelltheorie führten zu einer neuen Einschätzung der Funktion der Spermien. Im Jahr 1824 behaupteten der Schweizer Mediziner Jean Luis PREVOST (1790-1850) und der Schweizer Chemiker Jean Baptiste DUMAS (1800-1884), daß die Spermien keine Parasiten sind, sondern die aktiven Betreiber der Befruchtung. Sie bemerkten das universelle Vorhandensein von Spermien in geschlechtsreifen Tieren und ihr Fehlen in unreifen und alten Tieren. Diese Beobachtungen und das ihnen bekannte Fehlen der Spermien bei sterilen Maultieren brachten sie zur Überzeugung, daß es eine innige Beziehung zwischen ihrem Vorkommen in den Geschlechtsorganen und der Vermehrungsfähigkeit eines Tieres gibt. Sie nahmen an, daß Spermien tatsächlich in Eier eindringen und einen materiellen Beitrag für die nächste Generation leisten müssen. Diese Behauptungen blieben jedoch bis nach 1840 unbeachtet, als Rudolf A. von KÖLLIKER (1817-1905) die Spermienbildung aus Hodenzellen beschrieb. Er kam zum Schluß, daß Spermien stark modifizierte Zellen aus den Hoden von geschlechtsreifen Männchen sind und führte die Idee ad absurdum, daß die Samenflüssigkeit einer enormen Anzahl von Parasiten als Lebensraum dienen könne. KÖLLIKER verneinte jedoch einen physischen Kontakt zwischen Spermien und Eiern. Er glaubte, daß Spermien ein Ei nur zur Entwicklung anregten, ähnlich wie ein Magnet in Gegenwart von Eisen auf dieses reagiert, und interpretierte so seine richtigen Befunde mit der falschen vitalistischen Anschauung. Dieser Irrtum wurde 1876 widerlegt, als der Deutsche Oskar HERTWIG (1849-1922) und der Franzose Herman FOL (1845-1892) unabhängig voneinander das Eindringen eines Spermiums in ein Ei und die Vereinigung der Zellkerne sahen. HERTWIG hatte ein für detaillierte mikroskopische Untersuchungen geeignetes Objekt gesucht und ein perfektes im mediterranen Seeigel *Toxopneustes lividus* gefunden. Dieser kommt häufig vor und ist die meiste Zeit des Jahres geschlechtsreif, Eier sind in großer Zahl vorhanden und sogar bei großer Vergrößerung durchsichtig. Nach Vermischen von Spermien mit einer Eisuspension sind der Spermieneintritt in Eier und die Vereinigung der beiden Zellkerne im Mikroskop gut zu beobachten. HERTWIG machte auch andere wichtige Beobachtungen, zum Beispiel, daß nur ein Spermium in jedes Ei eindringt und daß die Zellkerne der Embryonen aus den bei der Befruchtung verschmolzenen Kernen entstehen.

Damit wurde erstmals die Notwendigkeit einer Befruchtung bei der sexuellen Vermehrung erkannt.

Die Zelltheorie als Voraussetzung für das Verständnis der Embryonalentwicklung

Die Entwicklung von mikroskopischen Hilfsmitteln und die damit verbundene genauere Sichtweise führte zu grundlegend neuen Erkenntnissen bezüglich der für Lebensprozesse wichtigen Strukturen, den Zellen. Im Jahr 1831 beschrieb der englische Botaniker Robert BROWN (1773-1858) eine annähernd runde „areola", die auffällig konstant in allen Zellen vorkommt. Er taufte diese Entdeckung „nucleus of the cell" (Zellkern), ließ sich jedoch auf keine Spekulationen über die mögliche Bedeutung ein. Doch Robert BROWN hatte den Zellkern entdeckt.

Der deutsche Botaniker Mathias Jacob SCHLEIDEN (1804-1881) war der erste, der darüber eine genaue Meinung entwickelte. Er stellte 1838 eine Theorie zur Bildung der Pflanzenzelle auf, die dem Zellkern eine zentrale Rolle in diesem Bildungsprozess zuwies. Die Bildung von Zellen aus dem Zellkern, so wie SCHLEIDEN sie sah, war jedoch, wie wir heute wissen, falsch. Von den Arbeiten SCHLEIDENS angeregt, untersuchte der Physio-

loge Theodor SCHWANN (1810-1882) Tiere und wies nach, daß bei aller Komplexität der verschiedenen Gewebe sie ebenso wie Pflanzen aus Zellen aufgebaut sind.

Damit gelang es ihm mit einem Schlag, den „innigsten Zusammenhang beider Reiche der organischen Natur" nachzuweisen und den grundlegenden Irrtum von SCHLEIDEN dahingehend zu korrigieren, daß Zellen aus Zellen entstehen und nicht in Zellen. SCHWANNS 1839 erschienene epochemachende Arbeit „Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen" formulierte die Grundlagen der Zelltheorie oder – besser gesagt – Zellbildungstheorie, die heute in abgewandelter und erweiterter Form das wichtigste Theorem der modernen Biologie darstellt und das Forschungsgebiet der Zytologie begründete. Die Zelltheorie war der größte Fortschritt der Biologie und hatte eine enorme Auswirkung. Es wurde erkannt, daß alle Lebewesen aus Zellen, den basalen Einheiten des Lebens, bestehen und diese nur durch Teilung aus anderen Zellen entstehen können, was der deutsche Arzt Rudolf VIRCHOV (1821-1902) im Jahre 1885 so treffend mit „omnis cellula e cellula" formulierte. Vielzellige Organismen, wie Tiere und Pflanzen, sind also von Vorläuferzellen abstammende Zellgemeinschaften, und eine Embryonalentwicklung kann daher nicht auf Präformation basieren, sondern muß epigenetisch erfolgen, weil, ausgehend vom Ei – einer einzelnen, jedoch speziellen Zelle – durch Zellteilungen viele neue Zellen und unterschiedliche Zelltypen gebildet werden.

Die Arbeiten HERTWIGS und anderer Forscher mit Seeigeleiern haben gezeigt, daß das Ei nach der Befruchtung zwei Zellkerne enthält, die aufeinander zuwandern, dann verschwinden und später einen größeren Zellkern bilden. Bei der Befruchtung entsteht also ein Ei mit einem Kern aus Anteilen von beiden Eltern, woraus geschlossen wurde, daß der Zellkern die physische Grundlage für die Vererbung enthalten mußte. HERTWIG sah außerdem, daß sich der Kern im Verlauf der nachfolgenden Teilungen in merkwürdiger Weise umformt und dabei eine „Anzahl dunkler, geronnener, in Karmin stärker gefärbter Fäden oder Stäbchen zu erkennen sind". Diese Strukturen, 1888 vom Mediziner Wilhelm von WALDEYER (1836-1921) als Chromosomen bezeichnet, und die Entdeckung des deutschen Zoologen Theodor BOVERI (1862-1915), daß die Chromosomen verschiedene Qualitäten besitzen (Theorie der Chromosomenindividualität) leiteten die klassische Ära der Vererbungsforschung ein. Thomas Harrison MONTGOMERY (1873-1912) erkannte, daß bestimmte Chromosomen in Ei- und Spermakernen einander morphologisch entsprechen, und er beobachtete deren Teilung während der Meiose (= Reduktionsteilung). Der Höhepunkt dieser Forschungsrichtung war gegen Ende des 19. Jahrhunderts der Beweis, daß die Chromosomen im Kern der Zygote (befruchtetes Ei) in gleicher Anzahl von den 2 Elternkernen herstammen. Dies lieferte die physische Grundlage zur Bestätigung der Übertragung genetischer Merkmale gemäß den Regeln, die der österreichische Botaniker und Mönch Gregor MENDEL schon vorher aufgestellt hatte. Man fand heraus, daß in somatischen Zellen eine für jede Art konstante Chromosomenzahl von Generation zu Generation weitergegeben wird, daß die diploiden Vorläufer der Keimzellen zwei Kopien eines jeden Chromosoms, eine mütterliche und eine väterliche, enthalten und die Chromsomenzahl während der Bildung der Keimzellen (Gameten) halbiert wird, sodaß jede haploide (mit einem einfachen Chromsomensatz) Keimzelle nur eine Kopie eines jeden Chromosoms enthält. Bei der Befruchtung wird dann die diploide Anzahl wieder hergestellt. Damit war die Chromosomentheorie der Vererbung geboren und wurde zum Fundament des Forschungsgebietes Genetik.

Deutschland, das Mutterland der embryologischen Forschung

Schon bei oberflächlicher Betrachtung der Literatur fällt auf, daß ein wesentlicher Teil der embryologischen Forschung ab der Mitte des vorigen bis zu Beginn dieses Jahrhunderts von deutschen Forschern (besonders aus Berlin, Göttingen, Jena und Würzburg) geschrieben und in Deutschland der Nährboden für nahezu alle bedeutenden Ideen, die Embryologie betreffend, gelegt wurde. Aus-

gelöst wurde dieser Aufschwung jedoch in England durch die Abstammungslehre (Deszendenztheorie) von Charles DARWIN (1808-1892), die in Deutschland in Ernst HAECKEL (1843-1919) einen wortgewaltigen Fürsprecher fand, der für ihre rasche und allgemeine Verbreitung sorgte. Das von HAECKEL 1866 in seinem Werk „Generelle Morphologie der Organismen" sehr eindrucksvoll beschriebene sogenannte biogenetische Grundgesetz, wonach die Individualentwicklung bei Wirbeltieren eine verkürzte Wiederholung der Stammesgeschichte darstellt (die Ontogenie ist eine Rekapitulation der Phylogenie) und sich daraus verschiedene Stufen der Höherentwicklung, mit der höchsten Entwicklungsstufe beim Menschen, ableiten lassen, gab der traditionellen deskriptiven Embryologie einen neuen Denkansatz, weil es die Deszendenztheorie in die embryologische Forschung mit einbezog. Auch der Mensch durchläuft, dem biogenetischen Grundgestz zufolge, während seines Fötuslebens verschiedene tierische Organisationsstufen, die bei Tieren mit niederer Organisationsstufe (Fische, Reptilien, Vögel) den bleibenden Zustand bilden.

Es darf aber nicht verschwiegen werden, daß vor HAECKEL bereits viele andere Autoren (71!) darauf hingewiesen haben, daß gewisse embryonale Formen den bleibenden Formen niederer Tiere ähnlich sind. Der eigentliche Wegbereiter dieses Gesetzes ist Johann Friedrich MECKEL (1781-1833), der nach einem für alle Tiere gültigen Grundtyp suchte und bereits 1811 ähnliche Gedanken wie HAECKEL formulierte. Auch der in Brasilien lebende Zoologe Fritz MÜLLER (1821-1897) hat das biogenetische Grundgesetz exakt formuliert und erst dann folgte HAECKEL, wie dieser selbst zugegeben hat.

Ein bedeutender Gegner dieser Formulierungen war der aus Estland stammende Embryologe Karl Ernst von BAER (1792-1876), der darauf hinwies, daß die wesentlichen Eigenschaften einer Tiergruppe niemals bei den embryonalen Formen einer anderen höheren Gruppe vorkommen. Was den Fisch zum Fisch macht (Atmung durch Kiemen), den Vogel zum Vogel (Flügel, Schnabel) kommt niemals im embryonalen Zustand einer anderen Tiergruppe vor. Nach von BAER entwickeln sich alle Embryonen so, daß der Embryo zuerst die Eigenschaften des Typus zeigt, zu dem er gehört, dann die der Klasse, Ordnung, Familie, Gattung, bis endlich die individuellen Eigenschaften zum Vorschein kommen. Der Embryo eines Huhnes ist also zuerst Wirbeltier, dann Vogel, dann Landvogel, Hühnervogel, Hühnchen, Henne oder Hahn einer bestimmten Farbe. Die Entwicklungsgeschichte des Individuums ist in jeder Beziehung die Geschichte der wachsenden Individualität. Wenn also die frühen Entwicklungsstadien einander ähnlich sehen, so kommt dies daher, daß sie noch nicht genug differenziert sind. K. E. von BAER verwarf also den Vergleich embryonaler Formen mit denen ausgebildeter Tiere und verglich nur die Embryonen der verschiedenen Tiere miteinander. Heute weiß man, daß die Formulierungen von BAERS korrekter sind und deshalb wird heute häufig anstelle des Begriffes „Biogenetisches Grundgesetz" der Begriff „von BAER-Gesetz" verwendet. Wie das Biogenetische Grundgesetz zeigt, wurde in der damaligen Zeit die Entwicklungsgeschichte der Tiere in erster Linie als Schlüssel für die Genealogie, die Verwandtschaft und Abstammung der Tiergruppen, betrachtet.

HAECKEL selbst hat wenig embryologische Forschungen betrieben. Die große Bedeutung HAECKELS für die embryologische Forschung seiner Zeit liegt eher in der von ihm, leider oft auch falsch, durchgeführten Verallgemeinerung von Fakten der vergleichenden Embryologie und deren Nutzung für die Begründung der Evolutionstheorie. Dies ruft auch heute noch starke konträre wissenschaftliche Emotionen hervor. Doch hatten HAECKEL-Schüler, wie Anton DOHRN, die Brüder Richard und Oscar HERTWIG, Wilhelm ROUX, August WEISMANN und Hans DRIESCH einen herausragenden Anteil an den Erkenntnisfortschritten in der embryologischen Forschung. Eine entscheidende Initiative für neue embryologische Forschungsansätze ging von HAECKELS ersten Assistenten in Jena aus. Es war Anton DOHRN (1840-1909), der erkannte, daß für die Klärung morphologisch-phylogenetischer Fragestellungen die Lebendbeobachtung der Individualentwicklung mariner Organismen und damit die Einrichtung einer meeresbiologischen Station eine Notwendigkeit darstellt. So wurde DOHRN, obwohl er zeitlebens des-

kriptive embryologische Forschung betrieb und mehr theoretisierte als experimentierte, durch die Gründung der Zoologischen Station in Neapel im Jahre 1872 ein Wegbereiter für die neue, die gesamte Biologie umwälzende Forschungsrichtung der experimentellen Embryologie. Der Grund, warum gerade diese Meeresstation und nicht andere Meeresstationen einen herausragenden Stellenwert hatte, lag sicher einerseits an seiner Lage am Mittelmeer und dem damit verbundenen leichten Zugang zum Beobachtungsmaterial, andererseits aber auch in der Begabung DOHRNS als Wissenschaftsorganisator und -manager. Die Station wurde von DOHRN mit den besten Einrichtungen ausgestattet, sodaß sich bald nach Gründung Wissenschafter aller Nationalitäten und Forschungsrichtungen an der Station tummelten. Dies veranlaßte Theodor BOVERI, selbst ein häufiger Besucher der Station zu dem Ausspruch, sie sei ein „permanenter Zoologenkongress". Unter den unzähligen Forschern, die an der Station arbeiteten und dort bedeutende embryologische Entdeckungen machten, sind besonders die Deutschen Hans DRIESCH, Curt HERBST, Otto WARBURG, der Italiener Pio MINGAZZINI und die Amerikaner Edmund B. WILSON und Thomas Hunt MORGAN hervorzuheben.

Das Entstehen der experimentellen Embryologie: Mosaik- versus Regulationsentwicklung

Nachdem man die Rolle, die der Zellkern bei Zellteilungen spielt, erkannt hatte und gesehen hatte wie die Zellen der Embryonen durch Zellteilungen aus der Zygote entstehen, stellte sich die Frage, wie es dazu kommt, daß sich Zellen während der Embryonalentwicklung unterschiedlich weiter entwickeln.

Eine sowohl für die Genetik als auch die Embryologie wichtige Anregung lieferte der deutsche Biologe August WEISMANN (1834-1914), der feststellte, daß die Nachkommen von Tieren ihre Charakteristika nicht vom Körper (soma) der Eltern bekommen, sondern nur von den Keimzellen – den Eiern und Spermien – und daß die Keimzellen nicht vom Körper, der sie in sich trägt, beeinflußt werden. WEISMANN zeigte so einen fundamentalen Unterschied zwischen Keimzellen und Körperzellen (Somazellen). Er entwickelte in seiner Keimplasmatheorie eine Vorstellung über die Vererbung einer Kernsubstanz von spezifischer Molekularstruktur, von ihm Keimplasma genannt, und prägte den Begriff „Keimbahn" derzufolge Eigenschaften, die im Laufe eines tierischen Lebens vom Körper erworben wurden, nicht auf die Keimzellen übertragen werden können. In Bezug auf die Vererbung ist der Körper nur ein Behälter für die Keimzellen oder, wie es der englische Novelist und Essayist Samuel BUTLER zusammenfaßte: „Eine Henne ist nur der Weg des Eies, um daraus ein anderes Ei zu machen".

WEISMANN stellte weiters ein Modell über Entwicklung vor, bei dem der Kern der Zygote eine Anzahl von speziellen Faktoren oder Determinanten enthalten soll. Er vermutete, daß, wenn das befruchtete Ei sich zu teilen (furchen) beginnt, diese Determinanten ungleichmäßig auf die Tochterzellen verteilt werden und so die zukünftige Entwicklung der Zellen kontrollieren. Das Schicksal jeder Zelle wäre daher im Ei durch die Faktoren, die es während der Furchung erhält, determiniert oder präformiert. Dieser Entwicklungstyp wurde „Mosaikentwicklung" genannt, weil das Ei als ein Mosaik von nicht zusammenhängenden Faktoren betrachtet wurde. Zentral bei WEISMANNS Theorie war die Annahme, daß frühe Zellteilungen asymmetrische Teilungen und die Tochterzellen, als Resultat der ungleichmäßigen Verteilung von Kernkomponenten, ganz unterschiedlich voneinander sein müßten. Diese Annahme war zwar falsch, doch lieferte das Modell der Mosaikentwicklung neue Denkanstöße.

In den späten achtziger Jahren des vorigen Jahrhunderts kamen für WEISMANNS Vorstellung der Mosaikentwicklung zusätzliche Argumente vom deutschen Embryologen Wilhelm ROUX (1850-1924), einem Schüler von Ernst HAECKEL, der mit Froschembryonen experimentierte. ROUX zerstörte nach der ersten Furchung eine der zwei Zellen mit einer heißen Nadel und stellte fest, daß sich die überlebende Zelle in eine wohl ausgebildete halbe Kaulquappe entwickelte. Er schloss daraus, daß die Entwicklung des Frosches auf einem Mosaikmechanismus beruht, der bei jeder Furchung die Eigenschaft der Zellen und

ihr Schicksal vorbestimmt. Leider war, da er die abgetötete Zelle nicht entfernte, der Versuchsansatz und somit auch das Ergebnis, wie sich später herausstellte, falsch, doch ROUX, der sich zum Ziel gesetzt hatte, die Kausalzusammenhänge der Formbildung (heute Musterbildung genannt) mit Hilfe von zergliedernden Techniken zu klären, rief mit diesem einfachen Experiment eine ganz neue Forschungsrichtung ins Leben, die sich von den bisherigen deskriptiven Verfahren der Embryologie durch ihr methodisches Vorgehen, nämlich der experimentellen Entwicklungsstörung, unterschied und die er „Entwicklungsmechanik" bezeichnete.

Als ROUX' Kollege und Landsmann, Hans DRIESCH (1867-1941), diese Experimente wenige Jahre später in Neapel bei Seeigeleiern wiederholte, erhielt er ein ganz anderes Resultat. Angeregt durch die bahnbrechende Entdeckung von Curt HERBST (1866-1946), der festgestellt hatte, daß kalziumfreies Seewasser den Zusammenhalt der Furchungszellen auflöst, hatte DRIESCH die Zellen des 2-Zellstadiums komplett voneinander getrennt und erhielt daraus normale, jedoch halb so große, Seeigellarven. Dies war genau das Gegenteil von ROUX' Ergebnissen und war der erste klare Beweis eines Entwicklungsganges, der als „regulativ" bezeichnet wird. Dabei besitzt ein Embryo die Fähigkeit (= Potenz), sich – auch wenn einige Teile entfernt oder umgeordnet werden – normal zu entwickeln. Die Ergebnisse dieser Versuche bestärkten DRIESCH in der Ansicht, daß eine mechanische Deutung des organischen Geschehens im Sinne physikalisch-chemischer Kausalität nicht ausreicht, die Leistungsfähigkeit eines Organismus zu erklären, wie dieser bei beliebiger Entnahme oder Verlagerung von Teilen diese ersetzen kann. DRIESCH spricht daher von „harmonisch-äquipotentiellen Systemen", bei denen die Potenzen gleichmäßig auf alle Zellen verteilt sind, die stets in Harmonie zueinander stehen und bei denen ein Hauptkriterium die „Selbstdifferenzierung", also „Jeder kann jedes" und „alles Einzelne steht in Harmonie zueinander" ist. DRIESCH, der später von der Biologie zur Philosophie wechselte, versuchte seine Ergebnisse mit „spezifischen richtenden Lebenskräften in Form von elektrischen oder magnetischen Strömen" zu erklären (Neovitalismus).

Der Amerikaner Edmund B. WILSON (1865-1939), der die Experimente DRIESCHS mit Anneliden- und Molluskenembryonen wiederholte, fand, daß diese Organismen sich nach Entnahme von Zellen zu keinem vollkommenen Organismus entwickeln und daher eine Mosaikentwicklung durchmachen, wie sie ROUX postulierte. Heute weiß man, daß im Tierreich sowohl der determinative Mosaikentwicklungstyp als auch der Regulationsentwicklungstyp vorkommen und die Ergebnisse von der untersuchten Tierart abhängen.

Obwohl das Konzept der Regulationsentwicklung stillschweigend voraussetzte, daß Zellen miteinander interagieren müssen, wurde die zentrale Bedeutung der Zell-Zell-Interaktionen in der Embryonalentwicklung bis zur Entdeckung des Induktionsphänomens, bei dem ein Gewebe die Entwicklung eines anderen, benachbarten Gewebes beeinflußt, nicht wirklich verstanden.

Durch Verpflanzungsexperimente von Blastomeren bei Seeigelembryonen, insbesonders von Sven HÖRSTADIUS, kristallisierte sich die Gradientenhypothese heraus. Bei diesen Experimenten zeigte sich, daß die Entnahme oder Verpflanzung von einzelnen Blastomeren oder ganzer Zellkränze bei frühen Furchungsstadien den Entwicklungsablauf der Embryonen beeinflußt und daß besonders die vegetativen Mikromeren die anderen Zellen beeinflussen. Diese und weitere Beobachtungen waren Anlaß zur Aufstellung der Gradiententheorie, die annimmt, daß Zellen in einem sich entwickelndem Zellverband auf eine Substanz im Zytoplasma – einem sogenannten Morphogen – reagieren und ein Konzentrationsgefälle dieser Substanz im Embryo unterschiedliche Reaktionen der Zellen hervorruft.

Die Bedeutung der Induktion und anderer Zell-Zell-Interaktionen in der Entwicklung wurde erst im Jahre 1924 durch die bedeutenden „Organisator"-Transplantationsexperimente bei Amphibienembryonen der beiden deutschen Forscher Hans SPEMANN (1869-1941) und seiner Assistentin Hilde MANGOLD geborene PRÖSCHOLDT (1898-1924) mit einem Schlag eindrucksvoll unter Beweis gestellt. Sie zeigten, daß durch Verpflanzung einer kleinen Region eines Molchembryos auf eine andere Stelle eines anderen Embryos, die Bildung eines zusätzlichen Embryoteiles ange-

regt (= induziert) werden kann. Das verpflanzte Gewebe wurde bei diesen Versuchen von der dorsalen Urmundlippe des Blastoporus, der schlitzförmigen Einstülpung, die sich bei Gastrulationsbeginn an der dorsalen Oberfläche des Amphibienembryos bildet, entnommen. Diese kleine Region, die für die Kontrolle des Aufbaus eines vollständigen funktionierenden embryonalen Körpers benötigt wird, nannten sie „Organisator". Für diese Entdeckung erhielt SPEMANN im Jahre 1935 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin, einen der zwei jemals für embryologische Forschung vergebenen Nobelpreise. Hilde MANGOLD starb leider vorher durch einen Haushaltsunfall und konnte daher nicht mehr geehrt werden, doch wurden die Arbeiten über die Determination embryonaler Zellen von ihrem Mann Otto MANGOLD (1891-1962) fortgeführt.

Heute sind bei Wirbeltieren viele Beeinflussungen der Entwicklungsgänge durch gesetzmäßige Induktionsabfolgen bekannt, auch, daß das Organisatorzentrum der Amphibien nicht das primäre Induktionszentrum ist, sondern dessen Lage bei Amphibien schon bei der Befruchtung durch den Ort der Fusion des Spermiums mit der Eizelle festgelegt wird. Bei der Befruchtung kommt es in der Eizelle zur Verlagerung von cortikalem Plasma (Segregation), wodurch ein halbmondförmiges, oft speziell gefärbtes Plasmaareal sichtbar wird, das die dorsale Achse des Embryos festlegt und das bei den nachfolgenden Furchungen in ein begrenztes Gebiet, das NIEWKOOP-Zentrum (benannt nach einem niederländischen Embryologen), eingebaut wird. Dieses Zentrum induziert später die Ausbildung des „SPEMANN"-Organisatorzentrums. Wie diese Induktionsabfolgen zeigen, können bei manchen Tieren die Achsen der Körpergrundgestalt schon vor der ersten Furchungsteilung festgelegt und die Zellverteilung und Musterbildung im Embryo bereits durch den Spermieneintritt eingeleitet werden.

Die Entdeckung der Induktion, sowie die von Johannes HOLTFRETER, einem Schüler von SPEMANN, entwickelten Kulturverfahren für embryonales Gewebe und dessen Entdeckung, daß sogar abgetötetes Wirbeltiergewebe verschiedenster Herkunft harmonische Organisationsmuster induzieren kann, hatten tiefgreifende Auswirkungen auf die experimentelle Embryologie. Sie lösten einen Boom an Experimenten bei den verschiedensten Tiergruppen aus und leiteten in den dreißiger Jahren unseres Jahrhunderts die besonders intensive Suche nach der biochemischen Natur der Induktion ein, die jedoch durch die nationalistische Strömung in Deutschland und den dadurch ausgelösten 2. Weltkrieg über viele Jahre unterbrochen wurde und danach nur langsam wieder in Gang kam. Die biochemischen Grundlagen für die Induktion wurden nicht gefunden, doch kam man zur Erkenntnis, daß zwei gegenläufige morphogenetische Gradientensysteme, eines für die Längs- und eines für die Querachse des Embryos, sehr detaillierte Positionsinformation über das gesamte Ei darstellen und ausreichen, um die Musterbildung in sich entwickelnden Organismen zu erklären.

Der Werdegang der Genetik und ihr Einfluss auf die embryologische Forschung

Bereits DARWIN erkannte, daß für die Erklärung der stammesgeschichtlichen Entwicklungsprozesse zu seiner Variabilitäts-Selektionstheorie noch zusätzlich eine Vererbungstheorie notwendig sei. Die Vergleichende Morphologie brachte für die Embryologie kaum weitere Erkenntnisse, weshalb sich die Evolutionsbiologen in zwei Gruppierungen aufspalteten. Die eine Gruppe, Naturalisten genannt, zu der auch HAECKEL gehörte, blieb weiterhin der vergleichend morphologischen Arbeitsrichtung treu und lehnte die Labormethoden, wie Fixieren, Schneiden, Färben oder experimentelle Eingriffe ab. Die andere Gruppe arbeitete experimentell. Der Großteil der Experimente waren Kreuzungsexperimente und wurden im 19. Jahrhundert in erster Linie von Tier- und Pflanzenzüchtern durchgeführt, die sich die Frage stellten, inwieweit durch Hybridisierung neue Arten entstehen oder negative Merkmale der Elternformen bei neugezüchteten Rassen vermieden werden können. Charles DARWIN, selbst Tauben- und Pflanzenzüchter, nahm an, daß in jeder Zelle kleine „Keimchen" (gemmules) als Merkmalsträger vorhanden seien, die durch Permeabi-

lität alle Gewebe durchdringen, sich ebenso wie die Zellen teilen und über die Blutbahn auch die Keimzellen erreichen. Die Variabilität bei Nachkommen erklärte er durch Mangel, Überschuß und Verlagerung oder Neuaktivierung von „Keimchen".

Auch E. HAECKEL entwarf eine Vererbungshypothese, in der er molekulare Strukturen der Zellen für die Vererbung verantwortlich ansah. Er machte die Umordnung von Atomen durch äußere Einflüsse und damit eine Veränderung der wellenförmigen Molekularbewegung dafür verantwortlich, daß eine Art „Gedächtnis" in „Lebensteilchen" (Plastidulae) entstehe und diese auch durch veränderte Körperzellen auf die Keimzellen und so auf die Nachkommen über die sogenannte „Plastidulbewegung" vererbt werden können. Sowohl HAECKEL als auch DARWIN waren wie die meisten Biologen der damaligen Zeit „Lamarckisten", denn sie waren überzeugt, daß die im Individualleben erworbenen Eigenschaften auf die Keimzellen übergehen und so vererbt werden.

Erst August WEISMANN, ein Anhänger DARWINS, widerlegte aufgrund seiner entwicklungsgeschichtlichen Studien an Hydromedusen und Protozoen die Hypothesen von DARWIN und HAECKEL über die Vererbung von durch äußeren Einflüssen erworbenen Eigenschaften. Er zog eine scharfe Trennlinie zwischen Keimplasma und Soma (Körperzellen) und lehnte direkte Einflüsse des Somas auf die Keimzellen ab. Seine Hypothese war, daß erbliche Variabilität bei der bisexuellen Vermehrung nur durch die Vereinigung zweier elterlicher Keimplasmen möglich sei (Amphimixis). Diese „Keimbahn-Theorie" erläuterte er detailliert in seinem bedeutenden, 1892 erschienenem Werk „Das Keimplasma. Eine Theorie der Vererbung".

Jedoch beinahe 30 Jahre vorher (1865) veröffentlichte der Augustinerpater Gregor MENDEL (1822-1884), der in Wien Botanik, Physik und Mathematik studiert hatte und Mitglied der Österreichischen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft war, seine Kreuzungsexperimente mit Erbsen- und Bohnensorten in der unbedeutenden Zeitschrift „Verhandlungen des Naturforschenden Vereins in Brünn" unter dem Titel „Versuche über Pflanzenhybriden". In dieser Arbeit kam er zur Erkenntnis, daß die von ihm ausgewählten Merkmale bei der Vererbung einer regelhaften Aufspaltung unterliegen. MENDELS Verdienst war es, daß er die aus 355 künstlich durchgeführten Befruchtungen gewonnenen und über mehrere Generationen gezogenen 12980 Bastardpflanzen statistisch auswertete. Dadurch war es möglich, die Spaltungsgesetze der Bastarde (Uniformitätsregel, Spaltungsregel, Unabhängigkeitsregel der Vererbung) aufzustellen, die heute als Mendelsche Regeln allgemein bekannt sind. MENDEL hatte damit unter anderem den Beweis erbracht, daß Erbmerkmale unabhängig voneinander auf die Nachkommen übertragen werden können. Diese bahnbrechende Arbeit von MENDEL geriet für 35 Jahre in Vergessenheit und wurde erst 1900 durch den holländischen Botaniker Hugo de VRIES (1848-1935), der ähnliche Versuche wie MENDEL an Bohnensorten anstellte, wiederentdeckt. Dadurch fanden die Mendelschen Vererbungsgesetze weltweite Anerkennung und wurden zum Fundament des neuen Wissenschaftszweiges Genetik.

De VRIES bemerkte aber auch, daß unter Wildpopulationen der Nachtkerze (*Oenothera*) spontan erbliche Varietäten auftreten, die er als Mutanten bezeichnete und er wies in seinem Werk „Mutationstheorie" auf die Möglichkeit der Entstehung neuer Arten durch sprunghaft auftretende Erbänderungen hin. Die Mutationstheorie war es auch, die das Interesse von der Selektionstheorie DARWINS wegführte.

Einen weiteren maßgeblichen Anteil am Zurücktreten evolutionstheoretischer Fragen hatte Thomas Hunt MORGAN (1866-1945). MORGAN begann 1907, angeregt von dem aus der Schweiz stammenden Zoologen Edmund Beecher WILSON, an der Columbia Universität New York sowohl zytologische als auch populationsgenetische Experimente an einem für diese Fragestellungen optimal geeigneten Objekt, der Taufliege *Drosophila melanogaster*, durchzuführen.

Er entdeckte dabei die ersten wirklichen natürlichen Mutationen und gewann neue Erkenntnisse über die materiellen Erbträger in den Kernstrukturen und leitete davon 6 Vererbungsgesetze ab.

Zu den zwei Mendelschen Prinzipien der Spaltung und freien Kombination kamen das

Prinzip der Koppelung, das des Faktorenaustausches, das der linearen Anordnung der Gene und das der begrenzten Koppelungsgruppen hinzu. MORGAN fand heraus, daß es viel mehr Merkmalspaare als Chromosomenpaare gibt und daß man sich ein Gen nur als einen sehr kleinen Teil eines Chromosomenfadens vorstellen kann. Diese Erkenntnisse beherrschten in der Phase der sogenannten klassischen Genetik die nächsten 30 Jahre nach der Entdeckung der Mendelschen Gesetze und führten zur Theorie des Gens, mit der es möglich war, genetische Probleme auf streng zahlenmäßiger Basis zu behandeln und Vorhersagen zu machen. Diese Theorie war auch die Grundlage für die Erstellung von Genkarten. Dabei wurde mit Hilfe der Riesenchromosomen in den Speicheldrüsen von *Drosophila* aus der Häufigkeit der Entkoppelung von Genen, (d. h. der Trennung von zwei normalerweise gemeinsam vererbten Merkmalen im Zuge der Neukombination während der Meiose) auf ihren relativen Abstand im Chromosom geschlossen. Im Jahre 1925 gelang es dann H.-J. MULLER erstmals bei *Drosophila*, durch Röntgenstrahlen künstliche Mutationen auszulösen, wodurch die experimentellen Möglichkeiten um ein Vielfaches erweitert wurden. MULLER stellte fest, daß die Gene die eigentliche Grundlage des Lebens seien und nicht, wie bisher angenommen, das Protoplasma. Für ihre richtungsweisenden Arbeiten wurden sowohl MORGAN (im Jahr 1933) als auch MULLER (im Jahr 1946) mit dem Nobelpreis ausgezeichnet.

Während der frühen Jahre dieses Jahrhunderts gab es wenig Verbindung zwischen Embryologie und Genetik, denn als MENDELS Regeln im Jahre 1900 wiederentdeckt wurden, war das Interesse an den Mechanismen der Vererbung – speziell in Beziehung zur Evolution zwar groß – jedoch weniger in Beziehung auf die Entwicklung. Genetik wurde als das Studium der Vererbung von Elementen des Erbgutes von einer Generation auf die nächste angesehen, wogegen Embryologie das Studium darüber war, wie sich ein einzelner Organismus entwickelt und im Speziellen, wie Zellen sich im frühen Embryo voneinander zu unterscheiden beginnen. Genetik schien in dieser Hinsicht für die Entwicklung irrelevant zu sein.

Ein wichtiges Konzept, das möglicherweise die Verbindung zwischen Genetik und Embryologie schuf, war die Unterscheidung zwischen Genotyp und Phänotyp. Dies wurde zum ersten Mal durch den dänischen Botaniker Wilhelm JOHANNSEN (1857-1927) im Jahre 1909 herausgestrichen, der auch für den damals hypothetischen materiellen Vererbungsträger (die Anlage) den abstrakten Begriff Gen einführte. Die genetische Ausstattung oder Information, die ein Organismus von seinen Eltern erhält, ist somit der Genotyp, sein sichtbares, reales Erscheinungsbild, sein innerer Bau und seine Biochemie in jedem Stadium seiner Entwicklung ist der Phänotyp. Während der Genotyp ganz offensichtlich die Entwicklung kontrolliert, beeinflussen Umweltfaktoren, die auf den Genotyp einwirken, den Phänotyp. Obwohl sie denselben Genotyp haben, können zum Beispiel eineiige Zwillinge, wenn sie heranwachsen, ganz bedeutende Unterschiede in der Ausbildung ihres Phänotyps haben. Nun konnte das Entwicklungsproblem vom Standpunkt der Beziehung zwischen Genotyp und Phänotyp hinterfragt werden, wie die genetische Ausstattung während der Entwicklung „übersetzt" oder „ausgedrückt" wird, damit ein funktionierender Organismus entsteht.

Trotzdem war das Zusammenfinden von Genetik und Embryologie ein langsamer und schwieriger Prozess. Heute wird allgemein anerkannt, daß interdisziplinäre Forschung für den wissenschaftlichen Fortschritt unbedingt notwendig ist. Das war jedoch nicht immer so. In den Jahren zwischen 1930-1940 entdeckten einige Biochemiker, daß Oozyten, Eier und Embryonen ideales Material für die Lösung biochemischer Rätsel darstellen, und eine zunehmende Anzahl von Embryologen glaubten, daß Morphogenese nicht ohne Mithilfe durch die Biochemie verstanden werden kann. Es war besonders Joseph NEEDHAM, der mit seinem Werk „Chemical Embryology" 1930, zu einer Zeit, als die Molekularbiologie selbst noch im Embryonalstadium war, den Grundstein für die heutige molekulare Embryologie legte. Knapp vorher wurde noch irrigerweise zwischen Thymonukleinsäuren (heute Desoxyribonukleinsäure = DNA) in tierischen Zellkernen und Zymonukleinsäuren (heute Ribonukleinsäure = RNA) in

pflanzlichen Zellkernen unterschieden. Auch der Nachweis von DNA in Pflanzenzellkernen brachte die Biochemiker nicht gleich auf die Idee, daß dieses Molekül irgendeine genetische Funktion haben könnte, da man annahm, daß es während der Oogenese, wenn die Lampenbürstenchromosomen (= Chromosomen mit seitlichen von der Hauptachse abstehenden Schleifen) maximal ausgebildet sind, verschwindet.

Erst ein besseres Verständnis über den Aufbau und die Funktion der Gene und die Entdeckung in den Jahren nach 1940, daß Gene die Proteine kodieren, war ein wichtiger Wendepunkt und brachte einen riesigen Fortschritt für die embryologische Forschung. Da bereits bekannt war, daß die Eigenschaften einer Zelle durch die Proteine, die sie enthält, festgelegt werden, konnte die bedeutende Rolle, die die Gene bei der Entwicklung spielen, zumindest abgeschätzt werden. Die von G. W. BEADLE und E. L. TATUM bereits 1930 anhand von Versuchen an Mangelmutanten (d. s. Zellen, die infolge eines veränderten Gens eine bestimmte Substanz nicht mehr herstellen können) aufgestellte „Ein Gen = ein Protein-Hypothese" war ein grundlegender Ansatz für die Aufklärung der molekularen Grundlagen der Vererbung. Diese Hypothese besagt, daß jedes Gen ein ganz bestimmtes Protein kodiert, sei es ein Strukturprotein oder ein Enzym, das den Stoffwechsel katalysiert. Die Forscher wußten damals noch nichts über den materiellen Träger dieses Codes beziehungsweise dieser Erbinformation. Man dachte unter anderem an Proteine. Doch 1944 konnten O. T. AVERY und seine Mitarbeiter eindeutig zeigen, daß Desoxyribonucleinsäure (DNA) die genetische Information enthält, indem sie isolierte DNA in Bakterien (Pneumococcen) einschleusten und die genetische Information der Fremd-DNA in den Bakterien zur Wirkung brachten. Damit begann eine intensive und langwierige Forschungstätigkeit zur Aufklärung der Struktur des DNA-Moleküls und der Klärung des Genetischen Codes.

1950 stellte Erwin CHARGAFF fest, daß die Basen Adenin und Thymin einerseits sowie Cytosin und Guanin andererseits immer in gleichem Verhältnis in der DNA vorliegen. Er schloß daraus, daß die Basen im DNA-Molekül Paare bilden, da sie nur in dieser Kombination räumlich zusammenpassen („Komplementaritätsregel"). Seine Ergebnisse wurden nur wenig beachtet, doch stellten sie einen wichtigen Schritt für die Aufklärung der DNA-Struktur dar. Aufbauend auf CHARGAFFS Ergebnisse veröffentlichten James WATSON und Francis CRICK das Doppelhelixmodell der DNA, das so grundlegende Vorgänge wie die identische DNA-Verdopplung vor der Zellteilung (Replikation) und die Übersetzung des DNA-Codes in RNA-Moleküle (Transkription) erklärbar machte.

Beide wurden dafür 1962 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Der genetische Code selbst wurde 1961 vor allem durch Robert W. HOLLEY, Har G. KHORANA und Marshall W. NIRENBERG (Nobelpreis 1968) geknackt. Dabei wurden die Beziehungen zwischen je drei Basen (Nukleotiden) der DNA und den von ihnen kodierten Aminosäuren, den Bausteinen der Proteine, erkannt. Diese neuen Erkenntnisse über die molekularen Grundlagen der Erbsubstanz waren die Grundpfeiler für den Forschungszweig der molekularen Genetik, die durch Erarbeitung von speziellen Techniken wiederum Eingriffe und Veränderungen des Genoms ermöglichte und dadurch die Basis für die, heute das Denken der Menschen fast täglich beeinflussende, Forschungsrichtung der Gentechnik schuf. Doch auch der lange Zeit stagnierenden embryologischen Forschung wurden damit neue Impulse zur Beantwortung alter Fragen gegeben.

Neue Antworten auf alte Fragen der Embryologie

Der Präformations – Epigenesestreit aus der Urzeit der Embryologie erscheint uns aus heutiger Sicht lächerlich, ist aber weiterhin ein „heißes" Thema. Das alte Problem wird nur durch die aus der Zytologie, Genetik und Molekularbiologie gewonnenen Erkenntnisse anders artikuliert. Anstatt von „Epigenese" spricht man jetzt von regulativer Entwicklung und „Präformation" bedeutet die im Ei durch das Genom und der Struktur der DNA festgelegte vordeterminierte Ordnung. Daher stellte man die Frage, ob die Körperstrukturen direkt durch DNA-kodierte Information im Ei fest-

gelegt werden (Mosaikembryonen) oder ob sie erst später indirekt durch Veränderungen von Zell- und Gewebeeigenschaften auftreten (Regulationsembryonen). Heute weiß man, daß der Unterschied zwischen „Mosaikkeimen" und „Regulationskeimen" in erster Linie im unterschiedlichen zeitlichen Ablauf der Determination liegt und bei „Mosaikkeimen" die Entwicklung der einzelnen Zellen und Zelllinien weitgehend autonom abläuft und die gegenüber dem „Regulationskeim" meist in geringerem Ausmaß auftretenden Zellinteraktionen schon sehr früh wirksam sind. Bei Seeigeln und Wirbeltieren geschieht die Determination dagegen vorwiegend durch Zellinteraktionen und die Phase der Programmierung zieht sich über längere Zeit hin. Daher bleibt die Pluripotenz (Fähigkeit, daß mehrere Zelltypen aus einer Vorläuferzelle hervorgehen können) und die Regulationsfähigkeit entsprechend lange erhalten, obwohl auch bei diesen Entwicklungsgängen im Mutterleib während der Eireifung in die Oozyte deponierte maternale Genprodukte vorkommen, die den Zellen, die diese Produkte zugewiesen bekommen, früh eine besondere Aufgabe zuweisen. Doch wie kann die lineare Information, die in der DNA enthalten ist, die Aufgliederung eines befruchteten Eies zu einem bestimmten dreidimensionalen Organismus steuern? Für die Beantwortung dieser Frage ist das zentrale Dogma der Entwicklungsbiologie, nämlich die Hypothese der variablen, selektiven Genaktivität von essentieller Bedeutung. Die Hypothese besagt, daß in jeder Zelle eines Organismus zu einer bestimmten Zeit nur ganz bestimmte Gene aktiv und alle anderen inaktiv sind und sich dieses Muster im Laufe der Entwicklung fortwährend ändert. Der Entwicklungszustand eines Organismus wird demnach durch die jeweiligen Genprodukte festgelegt. Da die Produkte der meisten Gene Proteine sind, wird die Individualität einer Zelle durch ihr einzigartiges Proteinspektrum bestimmt und das Verständnis der Regulation der selektiven Genaktivität ist daher zusammen mit der Idee vom morphogenetischen Gradienten, der die Verwandlung des Kontinuums einer einzigen Qualität in eine geordnete Serie von verschiedenen Qualitäten erklärt, der Schlüssel für die Erklärung von Entwicklungsprozessen.

Was heute über die Prinzipien der Genwirkung und die Hierarchie der Genfunktionen bei der primären Musterbildung bekannt ist, ist insbesondere auf die zahlreichen, fast unüberschaubaren Untersuchungen an *Drosophila* zurückzuführen. Daß gerade diese Fliege zu dem Modelltier für Untersuchungen der frühen Embryonalentwicklung wurde, liegt daran, daß anfangs nur für *Drosophila* die größte Vielfalt an Methoden für die embryologische Forschung zur Verfügung stand. Zusätzlich zu den modernen Methoden der Zell- und Molekularbiologie konnte bei dieser Tierart auch die genetische Analyse bei durch Mutationen auftretende Ausschaltung einzelner Komponenten im dafür kodierenden Gen angewandt und so die nicht funktionsfähigen oder fehlenden Morphogene von spezifischen Phänotypen untersucht werden. Weiters läßt sich die Verteilung der Genprodukte, wie Boten-RNA (messenger-RNA oder kurz mRNA) und Protein, durch molekulare Sonden sehr gut bestimmen. Deshalb sind bei dieser Tierart die Grundprinzipien der Gestaltbildung trotz vieler noch offener Fragen besonders bezüglich biochemischer Details, am besten geklärt.

Die Frühentwicklung wird beherrscht von einigen wenigen Schlüsselgenen, den sogenannten Meistergenen, die über ihre Proteinprodukte Einfluß auf den Funktionszustand weiterer Gene nehmen. Diese Genprodukte enthalten DNA-bindende Domänen und wirken dadurch als Transkriptionsregulatoren. Bei *Drosophila* werden mehrere Klassen zeitlich nacheinander wirksamer, entwicklungssteuernder Gene aktiviert, maternale Gene für die Etablierung der Körperkoordinaten, Segmentierungsgene für die Aufgliederung des Embryos in sich wiederholende (metamere) Einheiten und homeotische Gene für die Bestimmung der Körperabschnitte (Kopf, Brust, Hinterleib). Da der Einfluß der maternalen Gene auf die Ausbildung der Polarität der Körperachsen am intensivsten untersucht ist, kann anhand der Wirkungsweise einiger Schlüsselgene die Hypothese der variablen, selektiven Genaktivität und die Wirkungsweise von morphogenetischen Gradienten bei der Musterbildung am besten erklärt werden.

Im Ovar eines *Drosophila*-Weibchens teilt sich eine Keimzelle vor ihrer Reifung zur

Oocyte immer viermal unvollständig, wodurch ein über Plasmabrücken verbundener Zellverband aus 15 Nährzellen und einer Oocyte entsteht. Dieser Zellverband liegt wiederum in einer als Follikelepithel bezeichneten Zellschicht, und alle diese Zellen zusammen bilden eine Funktionseinheit.

Die maternalen Gene sind in den Nährzellen und den Follikelzellen der Gonaden aktiv. Deren Genprodukte werden in Form von Boten-RNA in die Oocyte geschleust und erst nach der Befruchtung in Proteine umgebildet (translatiert). Der Aufbau der gesamten Bilateralsymmetrie ist daher indirekt unter der Kontrolle des mütterlichen Genoms, da – von der Oocyte aus betrachtet – die entscheidenden Richtungsgeber von außen, von den Nähr- und Follikelzellen des Ovars kommen und erst nach der Aufnahme in die Oocyte zum eiinternen Determinanten werden. Am Vorderpol der Oocyte, dort wo sie mit den Nährzellen verbunden ist, wird eine mRNA namens „bicoid“ eingelagert und am Hinterpol eine mit dem Namen „nanos“. Die Konzentration der beiden Genprodukte nimmt jeweils in Richtung gegenüberliegenden Pol ab. In den ersten Minuten der Embryonalentwicklung kommt es zur Translation in die Proteine „Bicoid“ und „Nanos“ und damit zur Ausbildung von Proteingradienten. Das Protein „Bicoid“ hat die Funktion eines Morphogens, da es die Transkription und damit die Aktivität nachgeschalteter Gene – abhängig von seiner Konzentration – steuert. Es wandert in die durch Furchungsteilungen entstandenen Zellkerne ein und aktiviert (exprimiert) dort andere Gene wie zum Beispiel das jetzt vom Embryo selbst exprimierte, daher zygotisch genannte, Gen „hunchback“. Das „Nanos“-Protein wandert nicht in die Zellkerne ein, sondern wirkt indirekt auf die Genaktivität, indem es im posterioren Bereich die Translation der „hunchback“-Boten-RNA zum „Hunchback“-Protein verhindert und somit einen weiteren Gradienten aufbaut. Bei Fliegenmutanten, denen die beiden maternalen Genprodukte fehlen, kommt es zu Fehlentwicklungen bei den Nachkommen. Stammt die Larve von einer Mutter, die keine „bicoid“-RNA produzieren kann, dann fehlt ihr der Vorderkörper mit Kopf und Brust. Bei Larven, deren Mutter keine „nanos“-RNA produzieren kann, fehlt das Hinterende. Durch umfangreiche Experimente mit diesen Mutanten wurde mit Hilfe aufwendiger genetischer und mikrobiologischer Techniken die Hypothese der variablen, selektiven Genaktivität und die Gradiententheorie bestätigt. Für ihren Beitrag an der Lösung der Frage nach dem Mechanismus der Musterbildung wurden die Forscher Christiane NÜSSLEIN-VOLHARD, Eric WIESCHAUS und Edward B. LEWIS im Jahre 1995 mit dem zweiten Nobelpreis für Entwicklungsbiologie ausgezeichnet. Christiane NÜSSLEIN-VOLHARD, jetzt Leiterin am Max Planck Institut für Entwicklungsbiologie in Tübingen, und Eric WIESCHAUS, seit 1981 Professor an der Universität Princeton, begannen 1978 gemeinsam mit der systematischen Suche nach Koordinaten- und Segmentierungsgenen. Edward B. LEWIS, der bereits 1915 im Labor von T. H. MORGAN eine merkwürdige *Drosophila*-Mutante entdeckt hatte, die zwei Paar Flügel hatte („bithorax“), wurde für sein Lebenswerk, insbesonders aber für seine Erforschung der homöotischen Gene ausgezeichnet. Eine weitere wichtige Erkenntnis des Pioniers der Entwicklungsgenetik war, daß die Gene des bithorax-Komplexes auf ihren Chromosomen genau in der Reihenfolge angeordnet sind wie die von ihnen bestimmten Körperregionen längs des Fliegenembryos. Inzwischen hat man verblüffende genetische Parallelen zu diesen Entwicklungsprozessen und Anomalien bei Wirbeltieren einschließlich des Menschen gefunden.

Der Schlüssel zum Verstehen von Entwicklungsvorgängen liegt, wie das Beispiel *Drosophila* zeigt, in der Zellbiologie bei den Prozessen der Signalübermittlung und der Kontrolle von Genexpressionen. Dies zeigen auch die unzähligen anderen bei ausgewählten Modelltieren in den letzten 20 Jahren durchgeführten Untersuchungen. Generell kann man sagen, daß heute die Prinzipien der Lebensvorgänge zumindest in Ansätzen verstanden werden. Was werden uns daher die nächsten 20 Jahre bringen? Das fragt sich WOLPERT (1994), ein Vordenker bezüglich entwicklungsbiologischer Fragen in der Zeitschrift Science. „Sicherlich werden weiterhin neue Techniken ausgearbeitet werden, die es uns ermöglichen, die Details von Genaktivitäten und die Biochemie und Biophysik des

Zellverhaltens zu verstehen. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß dabei neue generell gültige Prinzipien entdeckt werden. Die gegenwärtig vorhandene Faszination wird anhalten, bis die detaillierten Mechanismen verstanden worden sind und je mehr Ähnlichkeiten zwischen scheinbar unterschiedlichen Entwicklungsabläufen offenbar werden. Wir können also einem großen Fortschritt auf dem Gebiet der Entwicklung und Evolution entgegenblicken. Wir werden, so wie wir jetzt die Lösung des Rätsels der Entstehung des basalen Körperbauplanes erlebt haben, dann die Lösung von so grundlegenden Mechanismen, wie das Bewahren von Körperbauplänen über große Zeiträume und das Entstehen neuer Entwicklungsabläufe, erleben. Wir werden dann in der Lage sein zu verstehen, wie Entwicklung die Bildung von allen vielzelligen Organismen einschränkt und lenkt".

Wenn man diesen Prognosen Glauben schenkt, können wir einer spannenden Zukunft entgegen sehen.

Zusammenfassung

Seit jeher haben sich Menschen für die Entwicklung der Lebewesen und die Entstehung der Vielfalt an Arten interessiert. Von ARISTOTELES bis zum Nobelpreis für Entwicklungsbiologie 1995 zieht sich die Frage, wie Entwicklungsprozesse reguliert werden und welche vordeterminierte Ordnung dahintersteckt, wie ein roter Faden durch das Forschungsgebiet der Embryologie. Die Entwicklung von technischen Hilfsmitteln, die Entdeckung der Zellen als die basalen Bausteine des Lebens, Experimente, und das Verstehen der Vererbung von Information auf molekularer Basis führte dazu, daß wir heute grundlegende Lebensprozesse verstehen.

Anschrift des Verfassers:
Univ.-Doz. Dr. Manfred Günther WALZL
Institut für Zoologie
Universität Wien
Althanstraße 14
A-1090 Wien
Austria

Literatur

CREMER T. (1985): Von der Zellenlehre zur Chromosomentheorie. Naturwissenschaftliche Erkenntnis und Theorienwechsel in der frühen Zell- und Vererbungsforschung. — Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.

FREUND H. & A. BERG (Hrsg.) (1963): Geschichte der Mikroskopie. Leben und Werk großer Forscher. — Umschau Verlag, Frankfurt am Main.

GILBERT S.F. (1997): Developmental biology, 5th edition V.V. — Sinauer Associates, Sunderland.

GILBERT S.F. & A.M. RAUNIO (eds.) (1997): Embryology. Constructing the organism. — Sinauer Associates, Sunderland.

HORDER T.J., WITKOWSKI J.A. & C.C. WYLIE (eds.) (1985): A history of embryology. — Cambridge Univ. Press, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sidney.

JAHN I. (1990): Grundzüge der Biologiegeschichte.— G. Fischer Verlag (UTB 1534), Stuttgart, Jena.

JAHN I., LÖTHER R. & K. SENGLAUB (1985): Geschichte der Biologie. Theorien, Methoden, Institutionen, Kurzbiographien. — VEB G. Fischer Verlag, Jena.

KRUMBIEGEL I. (1957): Gregor MENDEL und das Schicksal seiner Vererbungsgesetze. — Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.

MOORE J.A. (1987) Science as a way of knowing – developmental biology. — Amer. Zool. **27**: 415-537.

MÜLLER I. (1975): Die Wandlung der embryologischen Forschung von der deskriptiven zur experimentellen Phase unter dem Einfluß der Zoologischen Station in Neapel. — Medizinhist. J. **10** (3): 191-218.

MÜLLER W.A. (1995): Entwicklungsbiologie. — G. Fischer Verlag (UTB 1780), Jena, Stuttgart.

NAGL W. (1987): Gentechnologie und Grenzen der Biologie. — Wissenschaftliche Buchgesellschaft Darmstadt.

NÜSSLEIN-VOLHARD C. (1990): Determination der embryonalen Achsen bei *Drosophila*. — Verh. Dtsch. Zool. Ges. **83**: 179-195.

OPPENHEIMER J. M. (1967): Essays in the history of embryology and biology. — The M.I.T. Press Massachusetts Inst. of Technology. Cambridge, Massachusetts & London, England.

SANDER K. (1990): Von der Keimplasmatheorie zur synergetischen Musterbildung – Einhundert Jahre entwicklungsbiologischer Ideengeschichte. — Verh. Dtsch. Zool. Ges. **83**: 133-177.

WOLPERT L. (1994): Do we understand development? — Science **226**: 571-572.

WOLPERT L., BEDDINGTON R., BROCKERS J., JESELL T., LAWRENCE P. & E. MEYEROWITZ (Eds.) (1998): Principles of development. — Oxford Univ. Press, Oxford, New York, Tokyo.